



(19) RU (11) 2136695 (13) C1
(51) 6 С 07 К 4/12, А 61 К 38/14

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ
к патенту Российской Федерации

1

(21) 98104033/04 (22) 18.03.98
(46) 10.09.99 Бюл. № 25
(72) Ямкова В.П., Ямков И.А., Рыков А.В.
(71) (73) ЗАОПП "Эндо-Фарм-А"
(56) RU 94045922 A, 10.05.97. US 5004818
A, 02.04.91. GB 2117385 A, 12.10.83. GB
2078229 A, 06.01.82. GB 2095260 A, 29.09.82.
CH 634334 A, 31.01.83. CH 682632 A,
29.10.93. EP 0000134 A1, 10.01.79. EP
0001912 A, 06.10.82.
(98) 117463, Москва, пр-д Карамзина, д.9,
кв.333, Ямковой В.П.
(54) СЫВОРОТОЧНЫЙ ГЛИКОПРОТЕИН,
ОБЛАДАЮЩИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АК-
ТИВНОСТЬЮ В СВЕРХМАЛЫХ ДОЗАХ
(57) Изобретение относится к препаратив-
ной и технологической биохимии и касает-
ся получения биологически активного

2

химического соединения - белкового про-
дукта, используемого как в клеточной био-
логии, так и в практической медицине и
ветеринарии. Предметом изобретения явля-
ется гликопротеин, выделенный из сыво-
ротки крови животных и человека,
характеризующийся следующей формулой
N-концевого фрагмента: R-Asn-Thr-Pro-Lys-
Leu-Gly-Ile-Ala-Ala-Phe-Lys, где R - ос-
таток олигосахарида, общей формулы
(Man)₃₋₅ - (GlcNAc)₂, Man - остаток ман-
нозы, Glc NAc - остаток N-ацетилглюкоза-
мина. Сывороточный гликопротеин
указанной структуры обладает биологиче-
ской активностью в сверхмалых дозах -
при концентрациях 10⁻¹⁴-10⁻¹⁹М. Молеку-
лярная масса 12,5 кДа. 6 табл.

RU 2136695 C1

НИИ ГПЭ
ФОНД
ЭКСПЕРТОВ

RU 2136695 — C1

RU

Изобретение относится к биологически активным соединениям и может быть использовано в клеточной биологии, практической медицине и ветеринарии.

Гликопротеины относятся к конъюгированным белкам или протеидам, содержащим помимо белковой части небелковый органический или неорганический компонент, могущий быть связанным с полипептидной цепью ковалентно, гетерополярно или координационно и вместе с аминокислотами присутствующий в гидролизате. Простетическая группа гликопротеинов может быть представлена нейтральными сахарами (галактоза, манноза, фукоза), аминосахарами (N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или кислые производные моносахаридов.) (Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт "Аминокислоты, пептиды, белки" М., Мир. 1985, с. 345).

Гликопротеины распространены в природе: к ним относятся важнейшие компоненты сыворотки крови (иммуноглобулины, трансферины и др.), групповые вещества крови, антигены многих вирусов (гриппа, кори и др.), некоторые гормоны, лектины, ферменты.

Большую группу гликопротеинов представляют собой лектины, белковая часть молекулы которых характеризуется отсутствием серосодержащих аминокислот и повышенным содержанием остатков серина и треонина, через которые осуществляется связывание углеводного компонента молекулы лектина с полипептидной цепью. Среднее содержание углеводов в лектинах составляет около 5%, их состав, в основном, ограничивается остатками галактозы, маннозы, фукозы, N-ацетилглюкозамина (см. там же: Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт "Аминокислоты, пептиды, белки" М., Мир. 1985, с. 428 - 429).

Из FVO и Сенева *P. falciparum* выделен и изучен гомогенный гликопротеин с молекулярной массой 56 кДа, значение изоэлектрической точки которого находится в области pH 5,5, содержащий в углеводной части N-ацетилглюкозамин и маннозу (US патент 4835259, кл. C 07 K 15/14, 1989).

Наиболее близким к данному изобретению является гликопротеин с молекулярной массой 5-300 кДа, значением изоэлектрической точки в области pH 2,5-5,0, соотношением белковой и углеводной частей (по массе) 50:50 - 80:20, содержащий в углеводной части остатки фукозы, рибозы, арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы, глюкозы и глюказамин, а в белковой части остатки аспарагиновой и глутаминовой кис-

лот, треонина, серина, пролина, глицина, аланина, цистеина, валина, метионина, цистатионина, изолейцина, лейцина, тирозина, фенилаланина, триптофана, орнитина, лизина, гистидина, аргинина (US, 4663438, кл. C 07 K 15/14, 1987).

Технической задачей изобретения является получение гликопротеина, обладающего биологической активностью в сверхмалых дозах (при концентрациях 10^{-14} - 10^{-19} М).

Указанный технический результат достигается новой структурой гликопротеина, выделенного из сыворотки крови животных и человека, а именно со структурой N-концевого фрагмента:

R-Asn-Thr-Pro-Lys-Leu-Gly-Ile-Ala-Ala-Ala-Phe-Lys,

где R - остаток олигосахарида общей формулы

$(\text{Man})_{3-5} - (\text{GlcNAc})_2 -$

Man - остаток маннозы,

GlcNAc - остаток N-ацетилглюкозамина.

Сывороточный гликопротеин (СГП) приведенной выше формулы имеет молекулярную массу (ММ) 12,5 кДа и содержит около 50 мас.% остатков углеводов. Значение его изоэлектрической точки находится в области pH 4,6-4,7. СГП полностью сохраняет биологическую активность после кипячения в течение 30 минут, после воздействия 6 М раствором мочевины, насыщенного раствора сернокислого аммония. СГП не подвержен действию протеолитических ферментов (трипсин, химотрипсин, пепсин, проназа).

Исследование первичной структуры СГП вызвало определенные затруднения в связи с тем, что N-концевая аминокислота его полипептидной цепи оказалась закрытой (СГП не реагирует с дексилхлоридом); СГП не подвержен действию гликопептидаз и эндогликозидаз. Поэтому для анализа первичной структуры СГП был выбран метод дегликозилирования с помощью трифторметансульфонатов. Этот метод позволяет гидролизовать периферийные остатки углеводов, не затрагивая интактность пептидной части молекулы.

В результате исследования обнаружено отсутствие продуктов гидролиза белковой части СГП с одновременным уменьшением ММ на величину, соответствующую ММ углеводной компоненты СГП. После гидролиза СГП происходит уменьшение его ММ до 5-7 кДа.

Определение N-концевой аминокислотной последовательности осуществляли автоматическим методом Эдмана после нанесения

гомогенного пептида на мембрану "Иммобилон".

Последовательность аминокислот обнаружена следующая:

R-Asn-Thr-Pro-Lys-Leu-Gly-Ile-Ala-Ala-Ala-Phe-Lys.

Углеводы определяли автоматическим методом на хроматографе Biotronic LC 2000.

Обнаружен олигосахарид общей формулы: (Man)₃₋₅ - (GlcNAc)₂ -

Сравнение N-концевой аминокислотной последовательности СГП с имеющимися структурами в банке данных по структуре белков и пептидов (Swissproe) показало отсутствие гомологии с известными белками.

Изобретение иллюстрируется 9 примерами и 6 таблицами.

Пример 1. Выделение гликопротеина из сыворотки крупного рогатого скота.

К 5 л сыворотки крови добавили при перемешивании 3550 г сухого сульфата аммония при pH 8,0. После выдерживания смеси в течение 4 часов центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, осадок белков удаляли, супернатант собирали и диализовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали и перерастворяли в дистиллированной воде до объема 0,5 л. К полученному раствору добавляли при перемешивании 355 г сухого сульфата аммония при pH 8,0, выдерживали смесь в течение 4 часов при 4°C, затем центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Супернатант диализовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали.

Лиофилизованную фракцию супернатанта растворяли в 20 мл раствора, содержащего 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца, наносили в течение 24 часов на колонку (100 x 10 мм) с сорбентом 4B сеф - Кон А. Колонку промывали в течение 4 часов раствором, содержащим 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца. Элюцию гликопротеина проводили 0,1 M раствором альфа-метилманнозида, содержащим 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца, в течение 24 часов. Элюят собирали, диализовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Полученный препарат при исследовании представлял гомогенный гликопротеин - слабо окрашенный в кремовый цвет, мелкодисперсный порошок, имел изоэлектрическую точку в области pH 4,6-4,7, коэффициент подвижности в 7,5%-ом поликариламидном геле (ПААГ) - 0,01 - 0,02, проявлял биологическую активность при концентрациях 10⁻¹⁴ - 10⁻¹⁹ M. MM 12,5 kDa.

проявлял биологическую активность при концентрациях 10⁻¹⁴ - 10⁻¹⁹ M, MM 12,5 kDa.

Пример 2. Получение гликопротеина из сыворотки крови крыс Wistar.

К 0,2 л сыворотки крови добавили при перемешивании 142 г сухого сульфата аммония при pH 8,0. После выдерживания смеси в течение 4 часов центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, осадок белков удаляли, супернатант собирали и диализовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали и перерастворяли в дистиллированной воде до объема 0,05 л. К полученному раствору добавляли при перемешивании 35,5 г сухого сульфата аммония при pH 8,0, выдерживали смесь в течение 4 часов при 4°C, затем центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Супернатант диализовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали.

Лиофилизованную фракцию супернатанта растворяли в 20 мл раствора, содержащего 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца, наносили в течение 24 часов на колонку (100 x 10 мм) с сорбентом 4B сеф - Кон А. Колонку промывали в течение 4 часов раствором, содержащим 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца. Элюцию гликопротеина проводили 0,1 M раствором альфа-метилманнозида, содержащим 10⁻³ M хлористого кальция и 10⁻⁵ M хлористого марганца, в течение 24 часов. Элюят собирали, диализовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Полученный препарат при исследовании представлял гомогенный гликопротеин - слабо окрашенный в кремовый цвет, мелкодисперсный порошок, имел изоэлектрическую точку в области pH 4,6-4,7, коэффициент подвижности в 7,5%-ом поликариламидном геле (ПААГ) - 0,01 - 0,02, проявлял биологическую активность при концентрациях 10⁻¹⁴ - 10⁻¹⁹ M. MM 12,5 kDa.

Пример 3. Получение гликопротеина из сыворотки крови собаки.

К 0,2 л сыворотки крови добавили при перемешивании 142 г сухого сульфата аммония при pH 8,0. После выдерживания смеси в течение 4 часов центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, осадок белков удаляли, супернатант собирали и диализовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали и перерастворяли в дистиллированной воде до объема 0,05 л. К полученному

раствору добавляли при перемешивании 35,5 г сухого сульфата аммония при pH 8,0, выдерживали смесь в течение 4 часов при 4°C, затем центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Супернатант дialisовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали.

Лиофилизованную фракцию супернатанта растворяли в 20 мл раствора, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, наносили в течение 24 часов на колонку (100 x 10 мм) с сорбентом 4B сеф - Кон А. Колонку промывали в течение 4 часов раствором, содержащим 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца. Элюцию гликопротеина проводили 0,1 M раствором альфа-метилманнозида, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, в течение 24 часов. Элюат собирали, дialisовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Полученный препарат при исследовании представлял гомогенный гликопротеин - слабо окрашенный в кремовый цвет, мелко-дисперсный порошок, имел изоэлектрическую точку в области pH 4,6-4,7, коэффициент подвижности в 7,5%-ом поликариламидном геле (ПААГ) - 0,01 - 0,02, проявлял биологическую активность при концентрациях 10^{-14} - 10^{-19} M, MM 12,5 кДа.

Пример 4. Получение гликопротеина из сыворотки крови лошади.

К 2 л сыворотки крови добавили при перемешивании 1420 г сухого сульфата аммония при pH 8,0. После выдерживания смеси в течение 4 часов центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, осадок белков удаляли, супернатант собирали и дialisовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали и перерастворяли в дистиллированной воде до объема 0,5 л. К полученному раствору добавляли при перемешивании 355 г сухого сульфата аммония при pH 8,0, выдерживали смесь в течение 4 часов при 4°C, затем центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Супернатант дialisовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали.

Лиофилизованную фракцию супернатанта растворяли в 20 мл раствора, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, наносили в течение 24 часов на колонку (100 x 10 мм) с сорбентом 4B сеф - Кон А. Колонку промывали в течение 4 часов раствором, содержащим 10^{-3}

M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца. Элюцию гликопротеина проводили 0,1 M раствором альфа-метилманнозида, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, в течение 24 часов. Элюат собирали, дialisовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали.

Полученный препарат при исследовании представлял гомогенный гликопротеин - слабо окрашенный в кремовый цвет, мелко-дисперсный порошок, имел изоэлектрическую точку в области pH 4,6-4,7, коэффициент подвижности в 7,5%-ом поликариламидном геле (ПААГ) - 0,01 - 0,02, проявлял биологическую активность при концентрациях 10^{-14} - 10^{-19} M, MM 12,5 кДа.

Пример 5. Получение гликопротеина из сыворотки крови человека.

К 2 л сыворотки крови добавили при перемешивании 1420 г сухого сульфата аммония при pH 8,0. После выдерживания смеси в течение 4 часов центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин, осадок белков удаляли, супернатант собирали и дialisовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали и перерастворяли в дистиллированной воде до объема 0,5 л. К полученному раствору добавляли при перемешивании 355 г сухого сульфата аммония при pH 8,0, выдерживали смесь в течение 4 часов при 4°C, затем центрифугировали при 10000 g в течение 15 минут. Супернатант дialisовали против дистиллированной воды до полного удаления ионов аммония, затем лиофильно высушивали.

Лиофилизованную фракцию супернатанта растворяли в 20 мл раствора, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, наносили в течение 24 часов на колонку (100 x 10 мм) с сорбентом 4B сеф - Кон А. Колонку промывали в течение 4 часов раствором, содержащим 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца. Элюцию гликопротеина проводили 0,1 M раствором альфа-метилманнозида, содержащего 10^{-3} M хлористого кальция и 10^{-5} M хлористого марганца, в течение 24 часов. Элюат собирали, дialisовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали.

Полученный препарат при исследовании представлял гомогенный гликопротеин - слабо окрашенный в кремовый цвет, мелко-дисперсный порошок, имел изоэлектрическую точку в области pH 4,6-4,7, коэффициент подвижности в 7,5%-ом поликариламидном геле (ПААГ) - 0,01 - 0,02.

проявлял биологическую активность при концентрациях 10^{-14} - 10^{-15} М, ММ 12,5 кДа.

Пример 6. Действие гликопротеина из сыворотки крови крыс на пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека в культуре.

Лимфоциты периферической крови человека культивировали по методу Мурхеда (Moorhead et al. 1960). 1 мл цельной или отстоявшейся крови инкубировали с 4 мл среды 199 и 1 мл сыворотки крупного рогатого скота. Пролиферацию лимфоцитов стимулировали добавлением в начале культивирования 0,05 мл фитогемаглутинина. Гликопротеин добавляли в среду через 48 часов после начала культивирования клеток, в контрольные флааконы добавляли соответствующий объем физиологического раствора. Клетки фиксировали через 72 часа после начала культивирования. За 2,5-3 часа до фиксации во флааконы добавляли колхицин до конечной концентрации 0,1 мг/мл. Перед фиксацией клетки осаждали центрифугированием и инкубировали в гипотоническом растворе при 37°C в течение 20 мин и фиксировали смесью метанола и уксусной кислоты (3 : 1). Из полученной суспензии клеток готовили мазки и окрашивали их красителем Гимза. Действие гликопротеина на пролиферативную активность лимфоцитов оценивали по изменению количества метафаз в клетках по сравнению с контролем. В каждом опытном и контрольном варианте просчитывали не менее 10000 клеток. Эксперимент повторяли трижды.

Данные объединены в табл. 1.

Вывод: в присутствии сывороточного гликопротеина в концентрации 10^{-14} - 10^{-15} М количество метафаз в клетках в культуре лимфоцитов возрастило в 2,5 - 6,5 раз по сравнению с контролем. Следовательно, при воздействии гликопротеина резко возрастает пролиферативная активность клеток.

Пример 7. Действие гликопротеина из сыворотки крови крупного рогатого скота на пролиферацию клеток костного мозга мышей в культуре.

Исследование проводили на самцах гибридных мышей СВА x C57BL весом 20 - 22 г. В каждый вариант опыта и в контроле было взято 3 животных. Гликопротеин в концентрациях 10^{-12} и 10^{-16} М вводили животным внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл на 1 животное. В контроле животным вводили 0,5 мл среды 199. За 3 часа до забоя всем животным вводили внутрибрюшинно по 0,2 мл 0,04%-ного раствора колхицина. Мышей забивали через 4, 6, 12,

24 и 32 часа после введения препарата. Костный мозг извлекали из обеих бедренных костей и инкубировали в 0,5%-ом растворе KCl в течение 7 мин при 37°C. Осаждение центрифугированием клетки фиксировали смесью метанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Из полученной суспензии клеток костного мозга готовили мазки и окрашивали красителем Гимза. На препаратах просчитывали количество метафаз в 10000 клеток. Количество экспериментов - 3. Результаты приведены в таблице 2.

Выводы: начиная с 4 и до 32 часов включительно после введения гликопротеина установили достоверное увеличение числа метафаз в клетках костного мозга. Величина биологического эффекта варьировалась от 30 до 90% и была максимальной при 18 - 24-часовой экспозиции.

В таблице 2 продемонстрировано влияние гликопротеина из сыворотки крови крупного рогатого скота на деление клеток костного мозга мышей.

Пример 8. Влияние гликопротеина на рост культуры фибробластов.

Опыты проводили на перевиваемой линии фибробластов китайского хомячка, штамм B 11 dii FAF-28, клон 431. Monoслойную культуру выращивали при 37°C в среде 199, смешанной (1:1) со средой Игла с добавлением 20% инактивированной сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков в атмосфере (6% CO₂ в воздухе). Анализировали влияние гликопротеина на динамику роста фибробластов и эффективность клонирования.

При анализе динамики роста культуры клетки высевали в ростовую среду ($1,2 \times 10^6$ кл./мл) и через 1-2 суток на логарифмической фазе роста производили смену среды и добавляли гликопротеин. Затем клетки снимали трипсином каждые 24 часа в течение 3-5 суток и подсчитывали число жизнеспособных. Контролем служили культуры, инкубируемые в ростовой среде без гликопротеина. Для определения жизнеспособности клетки окрашивали 1%-ым раствором трипанового синего.

Влияние гликопротеина на эффективность клонирования фибробластов оценивали по количеству колоний, выросших в чашках Кареля на 7 сутки после посева (400 клеток на чашку).

Гликопротеин добавляли к культуре в лог-фазе роста за 24 часа до клонирования клеток. Эффективность посева в контроле (ростовая среда без гликопротеина) составляла 50-70%. Колонии окрашивали метилтетрагидрофеном синим.

11

2136695

12

В таблицах 3 и 4 приведены результаты исследования влияния гликопротамина из сыворотки крови крупного рогатого скота на динамику числа фибробластов китайского хомячка в культуре и эффективность их клонирования *in vitro*.

Пример 9. Влияние гликопротамина из сыворотки крови крупного рогатого скота на заживление ран.

Анализ проводили на самцах крыс весом 180-250 г.

Животным под наркозом производили линейный разрез всей толщи кожи на спине. Длина разреза составляла примерно 5 см. Рану скрепляли хирургическими 3-4 скобками. Лечение начинали непосредственно после операции аппликацией препаратами на рану 2 раза в день. Продолжительность лечения - 2 дня. Животных наблюдали в течение 5

дней. На 6-ой день под наркозом у животных вырезали участки кожи с рубцовой тканью размером 1 x 1 см и производили их тензиометрию. О лечебном эффекте препаратов судили по массе груда в тензиометре в момент разрыва рубцовой ткани. Результаты представлены в таблице 5.

В таблицах 5 и 6 приведены результаты исследования ранозаживляющего действия гликопротамина из сыворотки крови, проведенного на экспериментальных животных

Результаты медико-биологических испытаний, проведенных в МНТК "Микрохирургия глаза"; НИИ глазных болезней им. Гельмгольца; Институте фармакологии РАМН, показали полную безопасность сывороточного гликопротамина - отсутствие острой и хронической токсичности.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Сывороточный гликопротеин молекулярной массой 12,5 кДа, содержащий N-концевой фрагмент формулы

R-Asn-Thr-Pro-Lys-Leu-Gly-Ile-Ala-Ala-Ala-Phe-Lys,

где R - остаток олигосахарида общей формулы (Man)₃₋₅(GlcNAc)₂-Man - остаток маннозы, GlcNAc - остаток N-ацетилглюказамина, обладающий биологической активностью в сверхмалых дозах.

Таблица 1

Действие гликопротеина из сыворотки крови крыс на деление лимфоцитов периферической крови человека в культуре

Концентрация гликопротеина (М)	Число метафаз в 10000 клеток
0 (контроль)	7,17 - 2,50
10^{-14}	40,87 - 7,36
10^{-16}	47,00 - 4,04
10^{-18}	13,79 - 2,24

Таблица 2.

Действие гликопротеина из сыворотки крупного рогатого скота на деление клеток костного мозга мышей

Время после введения гликопротеина (час)	Концентрация в водном растворе гликопротеина (М)	Число метафаз в 10000 клеток
4	0 (контроль)	45,20 - 2,9
	10^{-16}	69,50 - 1,7
	10^{-15}	62,70 - 2,12
	10^{-14}	34,60 - 3,58
	10^{-13}	54,90 - 3,15
6	0 (контроль)	52,00 - 2,21
	10^{-16}	80,16 - 0,08
	10^{-15}	61,69 - 2,90
	10^{-14}	55,10 - 2,71
	10^{-13}	55,38 - 7,89
12	0 (контроль)	65,70 - 1,60
	10^{-16}	84,10 - 4,70
	10^{-15}	81,80 - 6,10
	10^{-14}	90,30 - 2,10
	10^{-13}	104,00 - 5,20
18	0 (контроль)	62,08 - 0,09
	10^{-16}	74,76 - 0,16
	10^{-15}	110,30 - 0,07
	10^{-14}	79,15 - 1,60
	10^{-13}	65,61 - 6,21
24	0 (контроль)	62,70 - 1,70
	10^{-16}	64,90 - 0,80
	10^{-15}	87,70 - 1,40
	10^{-14}	120,70 - 0,60
	10^{-13}	105,60 - 2,83
32	0 (контроль)	57,38 - 1,75
32	10^{-16}	40,80 - 3,21
32	10^{-15}	41,60 - 7,44
32	10^{-14}	80,60 - 3,68
32	10^{-13}	84,05 - 1,77

Таблица 3

Влияние гликопротеина из сыворотки крови крупного рогатого скота на динамику числа фибробластов в культуре

Время воздействия гликопротеином (час)	Концентрация гликопротеина (М)	Процент увеличения числа клеток по отношению к контролю
24	10^{-19}	29,5
	10^{-16}	37,6
	10^{-15}	68,4
	10^{-14}	68,4
	10^{-12}	87,5
	10^{-10}	64,4
	10^{-16}	87,5
	10^{-15}	120,0
	10^{-14}	135,6
	10^{-12}	119,4
48	10^{-10}	17,4
	10^{-16}	62,0
	10^{-14}	51,0
	10^{-12}	40,5
72		

Таблица 4

Влияние гликопротеина из сыворотки крови крупного рогатого скота на эффективность клонирования фибробластов китайского хомячка в культуре

Концентрация гликопротеина (М)	Процент увеличения числа колоний по отношению к контролю
10^{-19}	15 - 18
10^{-17}	17 - 20
10^{-16}	35 - 40
10^{-15}	65 - 70
10^{-14}	60 - 65
10^{-13}	50 - 52
10^{-12}	15 - 20

Таблица 5

Терапевтическая эффективность гликопротеина из сыворотки крови крупного рогатого скота у крыс линейными ранами

N п/п	Препарат	Число животных в группе	Тензометрический показатель (г/см)
1	контроль (без лечения)	7	126 - 26
2	СГП 10^{-14}	7	251 - 17,5
3	СГП 10^{-19}	7	111 - 26
4	солкосерил-гель	7	166 - 32

Таблица б

Терапевтическая эффективность гликопротеина из сыворотки крови
крупного рогатого скота у крыс с асептическими ранами
при планиметрическом изучении

N п/п	Препарат	Число животных в группе	Площадь ран в см ² через сутки после лечения		
			3 суток	7 суток	13 суток
1	Контроль без лечения	7	5,2±0,3	4,7±0,6	0,93±0,1
2	СГП 10 ⁻¹⁴	7	5,8±0,3	2,9±0,3	0,40±0,1
3	СГП 10 ⁻¹⁹	7	4,2±0,2	1,9±0,4	0,40±0,1
4	Солкосерил-гель	7	5,5±0,5	2,7±0,3	0,55±0,2

Заказ 254 Подписьное
ФИПС, Рег. ЛР № 040921

121858, Москва, Бережковская наб., д.30, корп.1,
Научно-исследовательское отделение по
подготовке официальных изданий

Отпечатано на полиграфической базе ФИПС
121873, Москва, Берёжковская наб., 24, стр.2
Отделение выпуска официальных изданий